

Aus der Abteilung für klinische Immunologie des Universitätskrankenhauses
Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Vergleichende tierexperimentelle Untersuchungen
über den Normal Lymphocyte Transfertest,
den Cutantest an bestrahlten Hamstern und den
Mixed Lymphocyte Culture Test

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Manfred Peter Donné
aus Brunn

1960



Dekan: Professor Dr. E. Wetterer

Referent: Professor Dr. F. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung: 4. März 1968

Nicht einzeln im Buchhandel!

Überreicht vom Verfasser!

Sonderdruck aus der

Zeitschrift für Immunitätsforschung, Allergie und klinische Immunologie

Band 133, Seite 394-404 (1967)

Gustav Fischer Verlag · Stuttgart

*Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg
(Vorstand: Prof. Dr. F. Scheiffarth)*

Vergleichende tierexperimentelle Untersuchungen über den Cutantest an bestrahlten Hamstern und den Mixed Lymphocyte Culture Test¹⁾

H. Warnatz, F. Scheiffarth und M. Donné

Mit 1 Abbildung

Eingegangen am 3. April 1967

In den letzten Jahren sind eine Reihe von Histokompatibilitätstesten entwickelt worden, um aus einem Kollektiv möglicher Spender den für einen Empfänger geeignetsten herauszufinden. Als naheliegendste Testmethode bot sich an, Gewebe, hier insbesondere Haut des Spenders, auf den Empfänger zu übertragen und dessen Überlebenszeit zu bestimmen. Diese Methode verbietet sich jedoch, da hierdurch eine Sensibilisierung des Empfängers gegen Spendergewebe erfolgt und die Einheilungs- und Überlebenschancen eines Transplantats dadurch beeinträchtigt werden. Wilson, Henry und Merrill (27, 28) entwickelten deshalb den sogenannten Third Man Test, nach dem die Sensibilisierung durch Hauttransplantate auf ein drittes Individuum übertragen wird. Andere Verfahren bedienen sich der Empfängerlymphozyten, die als Träger der immunologischen Abwehr gegen das homologe Spendertransplantat in vivo oder in vitro getestet werden. Hierher gehört der Normal Lymphocyte Transfer Test (6, 7, 14, 27), bei dem Empfängerlymphozyten dem Spender intracutan injiziert werden und der Cutantest an bestrahlten Hamstern nach Ramseier (18, 19, 20), bei dem eine Mischung vom Empfänger- und Spenderlymphozyten letal bestrahlten Hamstern intracutan appliziert wird. Bei diesen Testen wird aus der Stärke der beobachteten Quaddelreaktion auf die Stärke der zu erwartenden Abwehrreaktion gegen die homologen Transplantate und damit auf die Transplantatüberlebenszeit geschlossen. Die in vitro Methoden gehen von der Beobachtungstatsache aus, daß Lymphozyten bei Kontakt mit homologen Zellen in der Gewebekultur morphologische Umwandlungen zeigen, die wir als Transformation der Zellen bezeichnen (1, 2, 3, 4, 8, 11, 15, 16, 17). Die Anzahl der beob-

¹⁾ Herrn Professor Dr. Dr. h. c. Schmidt zum 85. Geburtstag gewidmet.

achteten Transformationen erlaubt Rückschlüsse auf den Histokompatibilitätsunterschied zwischen Empfänger und Spender. Als optimales Verfahren käme schließlich die Bestimmung der Histokompatibilitätsantigene von Spender und Empfänger in Frage; durch Vergleich des Antigenmusters ließe sich dann, ähnlich wie bei der Blutgruppenbestimmung, die günstigste Empfänger-Spender-Kombination auswählen. Obwohl genaue Kenntnisse über das Histokompatibilitätsantigenmuster noch fehlen, beruhen auf diesem Prinzip die Leukozytengruppenagglutinationsteste nach Dausset und Van Rood (9, 10, 12, 22, 23, 24, 25) sowie der cytotoxische Test nach Terasaki (21, 26).

In einer früheren Veröffentlichung waren bereits der Normal Lymphocyte Transfer Test und der Third Man Test auf ihre Zuverlässigkeit geprüft worden. In der vorliegenden Arbeit sollen wieder im Meerschweinchenversuch der Cutantest an bestrahlten Hamstern und der Mixed Lymphocyte Culture Test auf die Stichhaltigkeit ihrer Ergebnisse überprüft werden.

Methodik

Als Versuchstiere dienten weibliche Albino-Meerschweinchen und gefleckte Meerschweinchen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 350 g. Alle Meerschweinchen stammten aus einer normalen Zucht, d. h. sie waren nicht ingezüchtet. Die Albino-Meerschweinchen dienten als Spendertiere, die gefleckten Meerschweinchen als Empfängertiere. Je ein Spender- und ein Empfängermeerschweinchen wurden zu Paaren zusammengefaßt und auf ihre gegenseitige Histokompatibilität geprüft. Mit den Lymphozyten dieser Tiere wurden folgende Histokompatibilitätsteste vorgenommen:

1. der Cutantest an letal bestrahlten Hamstern nach Ramseier und
2. der Mixed Lymphocyte Culture Test nach Hirschhorn.

Um die Stichhaltigkeit der Ergebnisse der einzelnen Tests zu prüfen, wurde Haut vom jeweiligen Spendertier auf das zugehörige Empfängermeerschweinchen übertragen und die Überlebenszeit des Hauttransplantats bestimmt.

Lymphozytengewinnung

Die Lymphozyten wurden aus dem Blut der Meerschweinchen durch Herzpunktion gewonnen. Das durch Heparinzusatz ungerinnbar gemachte Blut wurde zum Sedimentieren in Spitzgläschen gefüllt, wobei 0,4 ml Luviskol-Lösung (5%ige Polyvinyl-Pyrrolidonlösung) zum rascheren Sedimentieren der Erythrozyten zugegeben wurden. Die Röhrchen wurden im Brutschrank bei 37° C 15 Minuten in einem Neigungswinkel von 45° und danach 15 Minuten in vertikaler Position aufgestellt. Das überstehende, leukozytenreiche Plasma wurde mit Saugpipetten abgehebert und die Zellzahl der Leukozytensuspension bestimmt. Bei Auszählung von Ausstrichpräparaten der Leukozytensuspension konnte festgestellt werden, daß die Zellsuspension zu 95 bis 98% aus mononukleären Zellen bestand. Die von den Empfänger- und

Spendertieren gewonnene Lymphozytensuspension wurde bei 1200 Umdrehungen pro Minute abzentrifugiert und der zellfreie Überstand abgehebert. Das Sediment wurde aufgeschüttelt und die Zellzahl der Suspension so korrigiert, daß 0,1 ml einem Gehalt von $2,5 \times 10^6$ Zellen entsprach.

1. Cutantest bei bestrahlten Hamstern nach Ramseier: Für diesen Test wurden agoutifarbene Goldhamster mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 100 g verwendet. Um die immunologischen Abwehrfunktionen der Tiere auszuschalten, wurden sie in einem Plastikkäfig einer letalen Ganzkörperröntgenbestrahlung von 1500 R unterzogen. Die Goldhamster erhielten dabei 120 R/min 12,5 Minuten lang, bei einer Einstellung des Stabilipan III Gerätes auf 300 kV, 12 mAmp. und einem Abstand von 50 cm. 6–8 Tage nach der Bestrahlung waren sämtliche Tiere gestorben.

24–48 Stunden nach dieser Bestrahlung bekamen die Hamster die Lymphozyten intracutan injiziert. Nach Entfernen der Haare am Rücken der Hamster wurden in einem Abstand von knapp 1 cm $2,5 \times 10^6$ Lymphozyten des Spendertieres, $2,5 \times 10^6$ Lymphozyten des Empfängermeerschweinchens sowie ein Gemisch von je $1,25 \times 10^6$ Lymphozyten des Spender- und Empfängertieres intracutan injiziert. Das Gemisch der Lymphozyten wurde vor der Injektion 30 Minuten bei 37° C im Brutschrank inkubiert. Die sich entwickelnde Hautreaktion wurde nach 12, 24, 36 und 48 Stunden abgelesen. Für die Beurteilung der Hautreaktion wurde die Größe des Infiltrates, der Grad der Rötung sowie die Dauer der nachweisbaren Reaktion herangezogen.

2. Mixed Lymphocyte Culture Test: Die Zellzüchtung erfolgte in Röhren von 25 mm $\varnothing$ und 80 mm Höhe, die mit einem Silikonstopfen luftdicht verschlossen waren. Das Nährmedium für die Lymphozytenzüchtung hatte folgende Zusammensetzung: 40% synthetisches Nährmedium TC 199, 40% Hankslösung, 20% Kälberserum mit Zusatz von 200 E. Penicillin G und 0,1 mg Streptomycin pro ml; das pH des Nährmediums wurde mit einer 4%igen Natriumbikarbonatlösung auf einen Wert von 7,2 korrigiert. Diese Lösung wurde durch Filtrieren durch Seitz-Filterschichten sterilisiert. In den Kulturgefäßen wurden in 4 ml Nährmedium 4×10^6 Lymphozyten gezüchtet. Für jede Spender-Empfängertierkombination wurden 3 parallele Kulturen angesetzt. Die erste Kultur enthielt nur Empfängerlymphozyten (negative Kontrolle), die zweite Kultur enthielt Empfängerlymphozyten unter Zusatz von 0,1 ml Phythämagglutinin M (positive Kontrolle), in der dritten Kultur schließlich wurde ein Gemisch von 2×10^6 Spender-tierlymphozyten und 2×10^6 Empfängertierlymphozyten gezüchtet (gemischte Kultur). Alle Kulturen wurden bei 37° C im Brutschrank inkubiert, die positive Kultur wurde nach 3 Tagen, die negative und die gemischte Kultur nach 5 Tagen entnommen. Mittels Saugpipetten

wurden die jeweils am Boden der Kulturgefäße haftenden Lymphozyten vorsichtig abgespült und die Zellsuspension in Zentrifugenröhrchen überführt. Durch Zentrifugieren bei 1000 Umdrehungen pro Minute, 10 Minuten lang, wurden die Lymphozyten sedimentiert und der zellfreie Überstand abgehebert. Die Zellen wurden in 3 ml Hankslösung aufgeschüttelt und 1 Tropfen Fixativ (3 Teile Äthanol, 1 Teil Eisessig) zugegeben. Danach wurde erneut 10 Minuten lang bei 1000 Umdrehungen zentrifugiert und der Überstand erneut abgehebert. Die aufgeschüttelte Zellsuspension wurde mit 3 ml reinem Fixativ 10 Minuten lang inkubiert, schließlich erneut bei 1200 Umdrehungen pro Minute abzentrifugiert. Nach Abheberung des Überstandes wurde der in wenigen Tropfen Fixativ aufgeschüttelte Rückstand mit Pipetten auf durch Kohlensäureschnee tiefgekühlte Objektträger aufgetropft und durch Blasen verteilt. Die Präparate wurden zum Trocknen auf einen Objektträgerständer aufgestellt und anschließend nach Pappenheim gefärbt. Die mikroskopische Auswertung schließlich erfolgte derart, daß der Prozentsatz transformierter bzw. mitotischer Zellen unter 1000 lebenden Zellen ausgezählt wurde.

Die Ergebnisse der beiden Histokompatibilitätsteste wurden schließlich mit der Überlebenszeit der Hauttransplantate, die vom jeweiligen Spender direkt auf das zugehörige Empfängertier übertragen wurden, verglichen. Dazu wurden Hautstücke vom Ohr des Spendertieres von einer Größe von 2 cm² auf den Rücken des Empfängertieres übertragen. Beim Empfängertier wurde ein gleichgroßes Stück Epidermis entfernt und das Transplantat in die Wunde eingepaßt. Durch mehrmaliges Besprühen mit Liquidoplast Spray wurde das Transplantat fixiert, die Wunde mit sterilen Lappchen abgedeckt und der Verband durch zirkuläre Touren von 3 M Blenderm befestigt. Zur Bestimmung der Überlebenszeit der Hauttransplantate wurde vom 5. Tage an die überpflanzte Haut täglich angesehen und beurteilt.

Ergebnisse

Die Ergebnisse des Cutantestes an bestrahlten Hamstern nach Ramseier sind in der Tabelle 1 wiedergegeben.

Dabei zeigte sich keine Abhängigkeit der Stärke der Hautreaktion von der Dauer der Transplantationsüberlebenszeit. Dies trifft insbesondere auch für sehr starke und sehr schwache Hautreaktionen zu. Bemerkenswert war, daß auch intracutane Injektionen von Lymphozyten des Spender- bzw. des Empfängertieres allein in vielen Fällen positive Resultate ergaben, so daß also eine negative Anergie des Hamsters, die die Voraussetzung für den Hamstertest ist, sich nicht in jedem Falle einstellte. Die Reaktionsstärke dieser Testquaddeln war allerdings immer erheblich geringer als die nach Injektion von Lymphozytengemischen. Die Überlebenszeit der Hamster nach Rönt-

Tabelle 1

Ergebnisse des Cutantestes an bestrahlten Hamstern

Intensität der Hautreaktion	Zahl der Paare	Mittelwert der Transplantatüberlebenszeit
∅	3	10,70 ± 0,91
+	10	11,80 ± 0,45
++	24	11,58 ± 0,63
+++	3	11,33 ± 0,91

Es werden die Ergebnisse des Cutantestes an bestrahlten Hamstern, gemessen an der Intensität der Hautreaktion, mit der mittleren Überlebenszeit der Hauttransplantate bei der gleichen Spender-Empfängerkombination verglichen. Beurteilung der Stärke der Hautreaktion: ∅ = keine Hautreaktion, + = Hautreaktion unter 0,5 cm ∅, geringe Rötung und Infiltration, ++ = Hautreaktion bis 1 cm ∅, deutliche Infiltration und Rötung bis 48 Stunden nach Injektion, +++ = Hautreaktion über 1 cm ∅ mit starker Infiltration und Rötung, länger als 48 Stunden nachweisbar.

genbestrahlung betrug im Mittel 6 Tage, die längste Überlebenszeit betrug 8 Tage.

Die Ergebnisse des Mixed Lymphocyte Culture Testes sind in der nachfolgenden Tabelle 2 wiedergegeben.

Tabelle 2

Ergebnisse des Mixed Lymphocyte Culture Testes

Überlebenszeit der Transplantate	Zahl der Paare	Mittelwert der gezählten Transformationen in ‰
7 bis 9 Tage	6	159,17 ± 3,58
10 bis 12 Tage	24	135,67 ± 3,26
13 bis 15 Tage	8	105,00 ± 5,10
über 15 Tage	2	30,00 ± 6,00

Es sind die Mittelwerte der Lymphozytentransformationen in ‰ den gemittelten Transplantatüberlebenszeiten bei gleichen Spender-Empfängertierkombinationen gegenübergestellt.

Die Zahl der transformierten Zellen (s. Abb. 1) nach 5tägiger Kultur war am höchsten bei den gemischten Kulturen derjenigen Spender- und Empfängerlymphozyten, bei denen die kürzeste Transplantatüberlebenszeit beobachtet wurde. Die niedrigsten Zahlen wurden bei langer Transplantatüberlebenszeit gezählt. Die Unterschiede waren signifikant. In den Kulturen der Empfängerlymphozyten allein betrug der Prozentgehalt an transformierten Zellen $2,8 \pm 0,16\%$, in keinem Fall wurden 5% transformierte Zellen in den Kulturen von Empfängerlymphozyten überschritten. Die Phythämagglutinininkulturen der Empfängerlymphozyten, die nach 3 Tagen entnommen wurden, zeigten durchschnittlich $22,9 \pm 0,50\%$ transformierte Zellen; die Werte

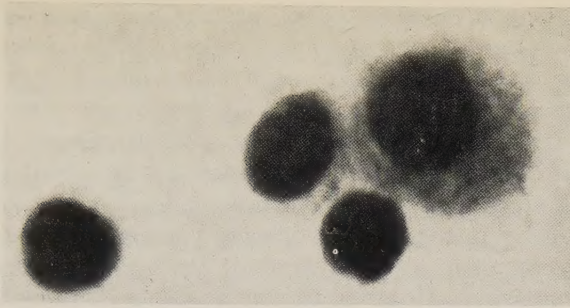


Abb. 1. Typische transformierte Zelle mit veränderter Kernplasmarelation, basophilem Zytoplasma und Nucleolen im Zellkern umgeben von mehreren normalen Lymphozyten.

schwankten dabei zwischen den Extremen 18,6 und 30,6%. Ordnet man die Ergebnisse der beiden Histokompatibilitätsteste in der Weise, daß die richtigen und falschen Vorhersagen einander gegenübergestellt werden (Tab. 3), so finden sich beim Cutantest an bestrahlten Hamstern in 55% der Fälle falsche Resultate, beim Mixed Lymphocyte Culture Test nur 22,5%.

Tabelle 3

**Gegenüberstellung der Ergebnisse des Cutantestes
am bestrahlten Hamster und des MCL-Testes**

Überlebens- zeit der Transplantate	Zahl der Paare	Cutantest am bestrahlten Hamster		MLC-Test	
		richtige Vorhersage	falsche Vorhersage	richtige Vorhersage	falsche Vorhersage
7- 9 Tage	6	0	6	5	1
10-12 Tage	24	14	10	16	8
13-15 Tage	8	4	4	8	0
über 15 Tage	2	—	2	2	—
Sa.	40	18	22	31	9
in %	100	45,0	55,0	77,5	22,5

Die Vorhersage der Histokompatibilität, die für eine Spender-Empfängertierkombination bei den beiden geprüften Testen gegeben wurde, wurde auf Übereinstimmung mit der jeweils bestimmten Transplantatüberlebenszeit bei gleicher Spender-Empfängertierkombination geprüft. Die Beurteilung der Ergebnisse bei den beiden Histokompatibilitätstesten erfolgte wie in Tabelle 1 und 2.

Diskussion

Bei den hier geprüften Histokompatibilitätstesten handelt es sich um Methoden, die auf Reaktionen der Empfängerlymphozyten bei Kontakt mit homologem Gewebsantigen des Spenders beruhen. Der

Ramseier Test geht dabei von der Voraussetzung aus, daß Goldhamster nach einer Bestrahlung mit einer letalen Röntgendosis nicht mehr gegenüber artfremden Zellen zu reagieren vermögen und andererseits die übertragenen Lymphozyten Goldhamstergewebe nicht als Antigen empfinden. Trotz Verabreichung der von Ramseier angegebenen Strahlendosis (18, 19, 20), die die Goldhamster maximal 8 Tage überleben ließ, konnte wiederholt eine mehr oder weniger starke Hautreaktion auch bei intracutaner Injektion von Spender- bzw. Empfängerlymphozyten allein gesehen werden. Da hierbei in der Regel der Ausfall der einzelnen Hautreaktionen deutliche Unterschiede zeigte, ist anzunehmen, daß es sich hierbei weniger um eine immunologische Reaktion des Goldhamsters gegen die artfremden Zellen als vielmehr um Reaktion der übertragenen Lymphozyten gegen Goldhamstergewebe handelte. Der Zahl der übertragenen Zellen scheint für die Stärke der beobachteten Hautreaktion eine entscheidende Bedeutung zuzukommen. Injektionen von nur 1×10^6 Zellen hatten in unseren Versuchen regelmäßig ein negatives Ergebnis. Schwierigkeiten ergeben sich schließlich beim Hamstertest vor allem auch deshalb, da eine exakte intracutane Injektion der Zellen bei der sehr dünnen Hamsterhaut nicht immer gelingt. Auch die Ablesung der Hautreaktion kann zu Fehlergebnissen führen, da häufig nur Knötchen verschiedener Größe in der Haut auftreten, die sich rasch wieder zurückbilden, während sonstige entzündliche Symptome ausbleiben. Insgesamt konnte auf Grund der von uns erhobenen Befunde keine Übereinstimmung zwischen der Stärke der beobachteten Hautreaktion und der Transplantatüberlebenszeit festgestellt werden.

Hierin erscheint der Test unzuverlässiger als der Normal Lymphocyte Transfer Test zu sein, der in einer früheren Studie (27) immerhin richtige Ergebnisse bei Vergleich von Transplantatüberlebenszeit und Stärke der Hautreaktion in 79,1% der Fälle brachte. Doch gelten für diesen Test wie für den Hamstertest die Nachteile der Intracutan-technik, die auf einer unterschiedlichen Reaktionsbereitschaft der Haut des injizierten Tieres und der nicht nachprüfaren Lebensfähigkeit der übertragenen Zellen beruht.

Die Grundlage des Mixed Lymphocyte Culture Testes ist die Umwandlung der Lymphozyten in Zellformen mit veränderter Kernplasmarelation, Auftreten von Nucleolen im Kern und basisch anfärbbarem Cytoplasma. Daß diese Transformation in unreifen Zelltypen nur bei Kontakt mit einem Antigen auftritt, wurde in entsprechenden Kontrollversuchen (Kultur der Empfängerlymphozyten allein) nachgewiesen. Die Anwesenheit von potentiellen Antigenen wie Kälberserum oder Penicillin im Nährmedium führte nicht zu einer Steigerung des Prozentgehaltes an transformierten Zellen, der durchschnittlich bei 2,5% lag und 5% nicht überschritt. Durch Zugabe von Phythämagglutinin zu einer weiteren Kontrollkultur der Empfängerlymphozyten konnte die Transformationsfähigkeit der kultivierten Zellen überprüft werden, die durchweg hoch lag.

Auf Grund unserer Ergebnisse ist der Mixed Lymphocyte Culture Test als Test zur Vorhersage der Histokompatibilität zwischen 2 homologen Meerschweinchen gut geeignet. Ausgesprochene Fehlergebnisse wurden nicht beobachtet; die Übereinstimmung mit der festgestellten Transplantatüberlebenszeit war durchweg gut. Diese gute Übereinstimmung war vor allem auch deshalb überraschend, da ja auch die Transplantatüberlebenszeit nicht als unbedingter Maßstab der Histokompatibilität zu werten ist, zumal auch das Einheilen homologer Transplantate von einer Reihe weiterer Faktoren abhängt, die vom Histokompatibilitätsunterschied unabhängig sind.

Insgesamt erscheint auf Grund der mitgeteilten Ergebnisse beim Meerschweinchen als Histokompatibilitätstest der Mixed Lymphocyte Culture Test weitaus am geeignetsten. Dies stimmt gut mit Angaben anderer Autoren überein; so haben Bach und Hirschhorn, Dausset u. Mitarb. (8), Moynihan u. Mitarb. (16), Bain u. Mitarb. (2, 3, 4) und Gray (13) die Zuverlässigkeit dieses Testes festgestellt. Als in vitro Test besitzt er darüber hinaus weitere Vorteile gegenüber den Cutantestmethoden, so z. B. fehlt die Übertragungsgefahr infektiöser Erkrankungen mit den Lymphozyten. Nachteil aller untersuchten Histokompatibilitätsteste ist jedoch die lange Untersuchungsdauer, die je nach Test zwischen 3 und 5 Tagen beträgt, so daß ihre Anwendung bei Übertragung von Kadaverorganen nicht in Frage kommt. Hier stellt bislang die Leukozytengruppenfeststellung nach Dausset (9, 10), Van Rood (22, 23, 24, 25) sowie Terasaki (21, 26) das einzige Verfahren dar, das ein Ergebnis binnen weniger Stunden zu liefern vermag.

Zusammenfassung

In den vorliegenden tierexperimentellen Untersuchungen an Meerschweinchen wurden die Ergebnisse des Cutantestes an bestrahlten Hamstern nach Ramseier sowie des Mixed Lymphocyte Culture Testes auf ihre Zuverlässigkeit bei der Vorhersage der Histokompatibilität zwischen Spender und Empfänger getestet. Die Häufigkeit falscher Vorhersagen und die Schwierigkeiten bei der richtigen Interpretation des Cutantestes beim bestrahlten Hamster lassen diesen Test auf Grund unserer Ergebnisse nicht als Histokompatibilitätsnachweis geeignet erscheinen. Demgegenüber besitzt der Mixed Lymphocyte Culture Test eine hohe Zuverlässigkeit bei der Vorhersage der Gewebeerträglichkeit eines Spenders bei einem Empfänger. Als Methode zur Spenderwahl erscheint dieser Test unter allen biologischen Histokompatibilitätstesten auf Grund unserer Untersuchungen der geeignetste zu sein.

Summary

In these experiments with guinea pigs the cutaneous test in irradiated hamsters according to Ramseier and the mixed lymphocyte culture test are examined concerning their reliability in the prediction of histocompatibility between donor and recipient. The frequently observed wrong predictions and the difficulties in the interpretation of the results make the hamster test not well suited for determination of histocompatibility. On the contrary, the mixed lymphocyte culture test shows a good reliability to select the most promising individual among a panel of possible donors for a recipient.

Résumé

Etudes comparatives effectuées chez l'animal d'expérience à propos du test cutané des hamsters irradiés et du «Mixed Lymphocyte Culture Test»

Dans le cadre des présentes études expérimentales effectuées chez le cobaye, on a cherché à vérifier les résultats du test cutané sur les hamsters irradiés d'après Ramseier, ainsi que du «Mixed Lymphocyte Culture Test» du point de vue de leur valeur en vue de prévoir une éventuelle histocompatibilité entre le donneur et le receveur. La fréquence de prévisions erronées et les difficultés liées à une interprétation correcte du test cutané chez le hamster irradié font que, sur la base des résultats enregistrés, ce dernier test ne nous semble pas adéquat en tant que preuve d'histocompatibilité. Par rapport à celui-ci, le «Mixed Lymphocyte Culture Test» présente une grande sécurité en vue de prévoir la tolérance tissulaire d'un donneur chez un receveur. Nous fondant sur nos recherches, ce test semble être le plus approprié parmi tous les tests biologiques d'histo-incompatibilité, en tant que procédé s'appliquant au choix d'un donneur.

Resumen

Experiencias comparativas en animales sobre el test cutáneo en el hámster irradiado y sobre el test con cultivo mixto de linfocitos

Резюме

Сравнительные экспериментальные исследования на животных относительно кутанного теста на облученных хомяках и теста смешанных культур лимфоцитов (Mixed Lymphocyte Culture Test)

Х. Варнац и др.

В целях выявления надежности прогноза гистокompatибильности между донором и реципиентом в изложенных экспериментальных исследованиях на морских свинках сравниваются результаты кутанного теста на облученных хомяках по Рамзейеру и теста на смешанных культурах лимфоцитов. На основании выявленной частоты погрешностей в прогнозах и отмечаемых осложнений при правильной интерпретации результатов кутанной пробы на облученных хомяках, авторами этот метод не считается надлежащим в качестве доказательства гистокompatибильности. В противоположность тому, проба на смешанных культурах лимфоцитов показывала высокую степень надежности прогноза тканевой compatибильности между донором и реципиентом. Результаты проведенных исследований доказывают, что из числа всех биологических тестов гистокompatибильности эта проба наиболее пригодна для выбора донора.

Literatur

1. Bach, F. und K. Hirschhorn: Lymphocyte interaction: A potential histocompatibility test in vitro. *Science* **143**, 813 (1964).
2. Bain, B., M. R. Vas und L. Lowenstein: The development of large immature mononuclear cells in mixed leukocyte cultures. *Blood* **23**, 108 (1964).
3. Bain, B., M. R. Vas und L. Lowenstein: A reaction between leukocytes in mixed peripheral blood cultures. *Fed. Proc.* **22**, 428 (1963).
4. Bain, B. und L. Lowenstein: Genetic studies on the mixed leukocyte reaction. *Science* **145**, 1315 (1964).
5. Billingham, R. E. und W. K. Silvers: Sensitivity to homografts of normal tissues and cells. *Annual Rev. Microbiol.* **17**, 531 (1963).

6. Brent, L. und P. B. Medawar: Tissue transplantation: A new approach to the „typing“ problem. *Brit. med. J.* **II**, 269 (1963).
7. Brent, L. und P. B. Medawar: Nature of the normal lymphocyte transfer reaction. *Nature* **204**, 90 (1964).
8. Dausset, J., F. T. Rapaport, P. Ivanyi und J. Colombani: Tissue alloantigens and transplantation in: *Histocompatibility testing*. Munksgaard Copenhagen 1965 p. 63.
9. Dausset, J. und F. T. Rapaport: Role of ABO erythrocyte groups in human histocompatibility reactions. *Nature* **209**, 209 (1966).
10. Dausset, J., F. T. Rapaport und J. A. Machado-Caetano: Relations entre les greffes et les antigènes leucocytaires ou plaquettaires chez l'homme. *Bibliotheca Haematologica* **23**, 104 (1965).
11. Elves, M. W., M. C. G. Israels und J. Booth: Lymphocyte transformation in cultures of mixed leukocytes. A possible test of histocompatibility. *Lancet* **I**, 1184 (1965).
12. Goldsmith, K. L. G.: Donor selection and compatibility typing. *Brit. med. Bull.* **21**, 162 (1965).
13. Gray, J. G.: Vortrag auf dem Transplantationskolloquium. Bad Homburg v. d. H. 1966.
14. Gray, J. G. und P. S. Russell: The lymphocyte transfer test. In: *Histocompatibility testing*. Nat. Acad. Sci., Washington 1965.
15. Hirschhorn, K., F. Bach, F. T. Rapaport, J. M. Converse und H. S. Lawrence: The relationship of in vitro lymphocyte compatibility to homograft sensitivity in man. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **120**, 303 (1964).
16. Moynihan, P. C., J. F. Jackson und J. D. Hardy: Lymphocyte transformation as an in vitro histocompatibility test. *Lancet* **I**, 453 (1965).
17. Oppenheim, J., J. Whang und R. Frei: The effect of skin homograft rejection on recipient and donor mixed leukocyte cultures. *J. exp. Med.* **122**, 651 (1965).
18. Ramseier, H. und R. E. Billingham: Delayed cutaneous hypersensitivity reactions and transplantation immunity in Syrian hamsters. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **120**, 379 (1964).
19. Ramseier, H. und J. W. Streitlein: Homograft sensitivity reactions in irradiated hamsters. *Lancet* **I**, 622 (1965).
20. Ramseier, H. und R. E. Billingham: Studies on delayed cutaneous inflammatory reactions elicited by inoculation of homologous cells into hamster's skins. *J. exp. Med.* **123**, 629 (1966).
21. Terasaki, P. I., T. L. Marchioro und T. E. Starzl: Serotyping of human leukocyte antigens: Preliminary trials on long-term kidney homografts survivors. In: *Histocompatibility testing*. Nat. Acad. Sci., Washington 1965.
22. Van Rood, J. J., A. Van Leeuwen und J. G. Eernisse: Leukocyte antibodies in sera of pregnant women. *Vox sang.* **4**, 427 (1959).
23. Van Rood, J. J. und A. Van Leeuwen: Leukocyte grouping, a method and its application. *J. clin. Invest.* **42**, 1382 (1963).
24. Van Rood, J. J., A. Van Leeuwen, J. G. Eernisse, E. Frederiks und L. J. Bosch: Relationship of leukocyte groups to tissue transplantation compatibility. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **120**, 285 (1964).

25. Van Rood, J. J., A. Van Leeuwen, A. M. J. Schippers, W. J. Voogs, E. Frederiks, H. Balner und J. G. Eernisse: Leukocyte groups, the normal lymphocyte transfer test and homograft sensitivity. In: Histocompatibility testing. Munksgaard Copenhagen 1965, p. 37.
26. Vredevoe, D. L., P. I. Terasaki, M. R. Mickey, R. Glasbeck, J. P. Merrill und J. E. Muray: Serotyping of human lymphocyte antigens. III. Long term kidney homograft survivors. In: Histocompatibility testing. Munksgaard Copenhagen 1965, p. 25.
27. Warnatz, H., F. Scheiffarth und G. Bruhn: Vergleichende tier-experimentelle Untersuchungen über zwei Methoden zur Bestimmung der Histokompatibilität. Langenbecks Arch. Clin. Chir. **315**, 282 (1966).
28. Wilson, R. E., L. Henry und J. P. Merrill: A model system for determining histocompatibility in man. J. clin. Invest. **42**, 1497 (1963).

*Prof. Dr. F. Scheiffarth, Abteilung für klinische Immunologie im Universitäts-
krankenhaus, 852 Erlangen, Krankenhausstraße 12*

L E B E N S L A U F

Am 28. Oktober 1940 wurde ich, Manfred Peter Donné, als Sohn des Arztes Dr. med. Rudolf Donné und seiner Ehefrau Hermine, geb. Rausch, in Brünn geboren.

Nach der Durchführung der Aussiedlung ließ sich mein Vater im Jahre 1949 in Mechenried, Kreis Ha furt am Main, als prakt. Arzt nieder.

Seit 1946 besuchte ich die Volksschule. An der Oberrealschule mit Gymnasium in Ha furt bestand ich die Aufnahmeprüfung und legte dort im Jahre 1960 nach dem Lehrplan des humanistischen Gymnasiums die Reifeprüfung mit Erfolg ab.

Nach Ableistung meines Wehrdienstes begann ich im Wintersemester 1961/62 an der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen-Nürnberg das Medizinstudium. 1963 bestand ich den naturwissenschaftlichen Teil der ärztlichen Vorprüfung und 1964 die ärztliche Vorprüfung. Ich beabsichtige im Sommer 1967 die ärztliche Prüfung abzulegen.

Das Staatsexamen habe ich am 19. Februar 1968 bestanden.

